UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952. — N° 44

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DE L'HORMONE GONADOTROPE A L'AIDE DE RANA ESCULENTA

(Travail du Laboratoire de la Clinique Obstétricale)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 18 février 1952

PAR

Jean-Jacques-Henri-Gaston BOUTAREAUD

Né à ANGOULÊME (Charente), le 7 février 1919

Examinateurs de la Thèse	MM. RIVIÈRE, professeur	*Président.*
	MAGENDIE, professeur	*Juges.*
	MAHON, agrégé	
	CHASTRUSSE, agrégé	

BORDEAUX
IMPRIMERIES DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1952

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536508_0064

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1951-1952. — N° 44

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DE L'HORMONE GONADOTROPE A L'AIDE DE RANA ESCULENTA

(Travail du Laboratoire de la Clinique Obstétricale)

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le lundi 18 février 1952

PAR

Jean-Jacques-Henri-Gaston BOUTAREAUD

Né à ANGOULÊME (Charente), le 7 février 1919

Examinateurs de la Thèse :

MM. RIVIÈRE, professeur ..... *Président.*

MAGENDIE, professeur .....
MAHON, agrégé ..... *Juges.*
CHASTRUSSE, agrégé .....

BORDEAUX
IMPRIMERIES DELMAS
6, Place Saint-Christoly

1952

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYENS HONORAIRES : MM. DUPÉRIÉ, CHELLE.

DOYEN : M. PORTMANN.

ASSESSEUR : M. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. A. MANDOUL, GUYOT, ANDÉRODIAS, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PERY, LABAT, CHARRIER, DUBREUIL, MACHEBŒUF, CRUCHET, DUPÉRIÉ, CHELLE.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	N...	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
id.	CREYX.	Clinique ophtalmologique	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. inf. et orthop.	LOUBAT.
Clinique chirurgicale	MASSÉ.	Clin. des maladies infectieuses	N...
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	Chimie biologique et médicale	TAYEAU.
Clinique gynécologique	MAGENDIE.	Physique méd. et pharmaceutique.	PIFFAULT.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.	Méd. col. et clin. mal. exotiques.	BONNIN.
Anatomie	N...	Clin. malad. cutanées et syphilit.	JOULIA.
Anatomie générale et histologie.	MAYER.	Clin. des mal. des voies urinaires.	DARGET.
Hygiène et clin. de la tubercul.	PIÉCHAUD.	Clin. mal. nerveuses et mentales.	DELMAS-MARSALET.
Médecine légale et du Travail.	DERVILLÉE.	Clin. d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Electroradiol. et clin. d'él. médic.	REBOUL.	Toxicologie et hygiène appliquée.	CASTAGNOU.
Chimie	MESNARD.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Matière médicale	GOLSE.	Clin. méd. des mal. des enfants.	FONTAN.
Pharmacie	VITTE.	Botanique et cryptogamie	GIRARD.
Physiologie	FABRE.	Thérapeutique	BROUSTET.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.		

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

MM. PERRENS (Maladies mentales). — DUFOUR (Anatomie).
BLANQUET (Physique pharmaceutique).

MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS :

	MM.		MM.
Parasitologie	PAUTRIZEL.	Pharmacie (1re Section)	R. GOLSE.
Physiologie	Mlle ROUGIER.	Pharmacie (2e Section)	MASQUELIER.
Bactériologie	MOUSTARDIER.	Pharmacie (3e Section)	CAZAUX.

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Médecine générale	SARIC.	Ophtalmologie	BESSIÈRE.
id.	DUBARRY.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.	F.-J. TRAISSAC	Dermatologie et syphiligraphie	LE COULANT.
id.	BERGOUIGNAN.	Pédiatrie et Puériculture	VERGER.
id.	LENG-LEVY.	Méd. légale et méd. du Travail.	L'ÉPÉE.
Chirurgie générale	POUYANNE.	Electroradiologie	LACHAPÈLE.
id.	LAUMONIER.	Odonto-stomatologie	MARONNEAUD.
id.	CHAVANNAZ.	Urologie	LANGE.
Obstétrique	MAHON.		
Obstétrique	CHASTRUSSE.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	DUFOUR.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Accouchements	CHASTRUSSE.	Organographie et Physiol. végét.	TEMPERE.
Puériculture	VERGER.	Chimie biologique	NEUZIL.
id.	PERY.	Pathologie chirurgicale	LAUMONIER.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI. COUSTOU.	id.	VILLAR.
Anatomie	RIGAUD.	Zoologie pharmaceutique	BAILENGER.
Chimie minérale	BABIN.	Hydrologie pharmaceutique	CAZAUX.
Cryptogamie	LAUBIE.		
Médecine légale	L'EPEE.		

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A LA MEMOIRE

DE MA GRAND-MERE

ET DE MA MERE

AUX MIENS

A MES AMIS

A TOUS LES MEMBRES

DU SERVICE DE CLINIQUE OBSTETRICALE

A Monsieur le Professeur agrégé L. CHASTRUSSE

Assistant des Hôpitaux.

A Monsieur le Professeur agrégé R. MAHON

Accoucheur des Hôpitaux,
Officier d'Académie.

A Monsieur le Professeur J. MAGENDIE

Professeur de Clinique gynécologique,
Chirurgien des Hôpitaux,
Croix de Guerre 1939-1940.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur M. RIVIERE

Professeur de Clinique d'accouchements.
Officier de la Légion d'honneur.
Croix de guerre.
Officier de l'Instruction publique.

Cher Maître,

Nous ne pouvons vous exprimer toute notre reconnaissance :

— pour l'enseignement dont nous avons bénéficié;

— pour les conseils que vous nous avez donnés tant du point de vue médical que du point de vue humain;

— pour l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de cette thèse.

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE

DE

L'HORMONE GONADOTROPE

A L'AIDE DE RANA ESCULENTA

(Travail du Laboratoire de la Clinique Obstétricale)

Nous tenons à remercier tous les membres du laboratoire, sans l'aide desquels ce travail n'aurait pas pu être mené à bien, et particulièrement :

M. le Docteur JAUBERT;
M. le Docteur SEIGLAN;
Mme BARGE et Mlle M.-T. PIECHAUD.

PREMIÈRE PARTIE

APPLICATION AU DIAGNOSTIC DE LA GROSSESSE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

C'est seulement deux ans après l'introduction de la réaction d'Aschheim-Zondek que Hogben, en 1930, montra que l'oviposition pouvait être provoquée chez la femelle du crapaud armé d'Afrique du Sud, le *Xenopus Loevis*, par l'injection d'extrait de la glande pituitaire.

En 1933, Shapiro et Zwaarenstein suggèrent d'appliquer la découverte de Hogben au diagnostic de la grossesse. Six à huit heures après l'injection dans le sac lymphatique dorsal de l'animal d'urine ou, mieux d'extraits urinaires, si les œufs mûrissent, se détachent des ovaires et descendent dans le cloaque, la réaction est positive, les urines sont celles d'une femme enceinte. Mais les femelles ne sont pas d'un emploi facile, et l'utilisation de l'urine complique encore ce test. Il faut préalablement, en effet, extraire les gonadrotrophines d'un volume important d'urine, et cette extraction ne peut être faite que par des procédés chimiques longs. Aussi ce test ne connut-il point le succès de celui de Friedmann sur la lapine, proposé en 1929.

Mais, en 1947, plusieurs auteurs attirèrent l'attention sur l'emploi des amphibiens mâles pour le diagnostic biologique

de la grossesse, et les publications ne tardèrent pas à se succéder à cadence accélérée, révélant l'emploi de plus en plus généralisé de ces animaux.

Houssay et Lascano Gonzalez, en 1929, avaient provoqué la libération des spermatozoïdes dans le testicule du crapaud par l'implantation d'hypophyse. Le mécanisme en fut recherché par de Robertis, Burgas et Breytter en 1946 : les spermatozoïdes mûrs restent normalement groupés en faisceaux serrés, fixés à la paroi du tube de Sertoli; ils ne s'en détachent que sous certaines influences occasionnelles, la sécrétion antéhypophysaire jouant un rôle déterminant.

D'autre part, les canaux efférents testiculaires traversent le rein, et le mélange des sécrétions rénales et testiculaires s'évacue directement dans le conduit uro-spermatique aboutissant dans le cloaque.

D'autres auteurs étudièrent ce phénomène. Rugle reproduisit l'expérience de Houssay et Lascano Gonzalez avec le mâle de *Rana pipiens* en 1937. Robbins, Parker et Bianco, en 1947, montrèrent que le mâle du *Xenopus Laevis* excrète des spermatozoïdes après l'injection d'hormone gonadotrope.

Mais ce fut Carlos Galli-Maïnini, de Buenos-Aires, qui rendit possible l'application pratique de ces publications au diagnostic de la grossesse, en employant le mâle de *Bufo arenarum*. Il constata que l'urine de la femme enceinte agit de la même manière que les gonadotrophines hypophysaires chez cet animal, à condition qu'il soit adulte et pèse au moins 100 grammes.

La technique est simple. Elle consiste dans l'injection sous la peau du dos, dans le sac lymphatique du crapaud, de 10 cm^3 de l'urine de la femme présumée enceinte. En cas de grossesse, les spermatozoïdes apparaissent dans l'urine de l'animal quarante-cinq minutes après l'injection; au bout de deux heures, ils y sont en grand nombre.

Cette réaction est extrêmement précoce et apparaît parfois avant la première suppression des règles.

De nombreux ouvrages sont venus confirmer, depuis, la

première publication de C. Galli-Maïnini. Voici ceux dont nous avons eu connaissance.

En Amérique du Sud.

En 1948, Galli-Maïnini publie 3.156 tests avec 98,16 à 100 % de résultats exacts.

La même année, Lima et Pereira injectent *Bufo marinus* et obtiennent 100 % d'exactitude sur 60 tests.

En 1949, Mello, employant *Bufo arenarum*, *Bufo crucifer*, *Leptodactylus ocellatus* et *Odontophrynus cultripe*, a 2,8 % d'erreurs sur 175 tests.

Aux Etats-Unis.

Wiltberger et Miller, en 1948, trouvent avec *Rana pipiens* des réactions constamment positives pendant les trois premiers mois et 50 % de réactions faussement négatives pendant les trois derniers mois de la grossesse.

Robbins et Parker, en 1949, rapportent 300 tests avec *Rana pipiens*, dont 12 résultats faussement négatifs et un résultat faussement positif.

Brody publie son expérience avec *Rana pipiens* : 103 cas exacts et 11 faussement négatifs.

Bodine et ses collaborateurs obtiennent 100 % de succès dans le premier tiers de la grossesse et plus de 70 % dans les deux derniers.

Cutler, se servant d'urine concentrée, selon la méthode de Scott, signale 2 réponses faussement négatives avec *Rana pipiens*.

Brandfass et Massa, sur 104 tests, 2 cas faussement négatifs au deuxième mois et 102 cas exacts à toute époque de la grossesse.

Marlowe, Dittebrandt, concentrent les urines et obtiennent, par la méthode à l'acétone, 97,82 % de résultats positifs, et, par la méthode au kaolin, 98,82 %, avec *Rana pipiens*.

Gardner, Nancy et Harris ont, avec le même animal, 89,5 % de réponses correctes dans le premier trimestre de la grossesse et 47 % dans les deux derniers.

Sharnoff et Zaino obtiennent 84 % de résultats positifs, toujours avec *Rana pipiens*.

Au Chili.

P. Leonardo Paredes utilise le *Bufo spinolosus* avec une sensibilité allant de 96,92 à 98,7 % et une spécificité de 100 %.

En Espagne.

Bedoya et Puras obtiennent, sur 237 cas, 99,16 % d'exactitude avec *Rana esculenta*, tandis que Hernandez Andueza, avec le même animal, a sur 229 tests 1,3 % de réponses négatives fausses.

En Angleterre.

Haines publie ses résultats avec 4 réactions faussement négatives.

Klopper et Frank rapportent 101 tests sur *Bufo vulgaris*, comprenant 51 positifs, 50 négatifs, et, parmi ceux-ci, 8 erreurs, dont 6 pour des grossesses du premier mois et 2 pour des grossesses dans leur huitième mois.

Bach et ses collaborateurs publient 4 résultats faussement négatifs sur 610 tests avec *Rana esculenta*.

Au Canada.

Frechette et Lalande contrôlent 25 tests avec la réaction de Friedmann-Brouha avec 100 % d'exactitude.

Aux Indes.

Bhaduri et Bardhan, employant *Bufo melanosticus*, *Bufo stomaticus* et *Rana tigerina*, rapportent 40 cas exacts avec 100 % de succès dans les six premiers mois de la gestation et 29 cas dans les trois derniers mois, avec 3 réponses négatives fausses.

En Pologne.

Biernack et Pigon expérimentent sur *Rana esculenta*, et, sur 103 tests, ont 2 résultats négatifs faux.

En Belgique.

Schockaert, Perin et Pardon utilisent *Bufo vulgaris*, *Bufo viridis*, *Bufo calimiti*. Ils trouvent des réactions positives avec 1/10 de centimètre cube au deuxième mois, 1/100 en cas de môle. Cette réponse est plus sensible et plus précoce que le test de Friedmann.

En Italie.

De nombreux travaux sont publiés, signés de Nobili, Cerquiglini, Martella, Internicola.

Bevacqua et Formentano contrôlent les résultats obtenus avec les tests de Galli-Maïnini et de Friedmann et signalent qu'il y a concordance dans 85,7 % des cas.

En France.

C'est par un article de de Gennes, en novembre 1947, que s'ouvrit la liste des travaux français.

H. et M. Hinglais, dans un premier rapport en mars 1948 à l'Académie des sciences, puis en avril à la Société de biologie, étudient l'application de la méthode de Galli-Maïnini aux grenouilles et aux crapauds indigènes.

Gallien, en avril et en juin, à la Société de biologie, publie ses résultats sur l'emploi de quelques espèces d'anoures exotiques et indigènes avec ou sans concentration d'urine. Pour lui, le *Xenopus Loevis* et le *Discoglossus pictus* ont l'énorme avantage, par rapport à *Bufo bufo* et *Bufo veridis*, de pouvoir être employés toute l'année.

Fotin, Smolenschi et Teodoru ont 99 % de résultats exacts en employant *Rana esculenta*.

Marachy et Gianetto donnent leur technique d'emploi de *Bufo vulgaris*.

En 1949, H. et M. Hinglais définissent une *rana* et *bufo* unité comme étant la plus petite dose qui, en injection dans le sac lymphatique dorsal, provoque en quatre heures une réponse franchement positive chez 50 % des animaux sexuellement mûrs et de même variété.

Pour eux, la grenouille, contrairement au crapaud, est sensible toute l'année sans aucune interruption, avec seulement une nette diminution de sensibilité avant et après la ponte, entre avril et juin. Mais il existe de larges différences de sensibilité individuelle. Ils signalent le blocage de la sensibilité du testicule après une première émission provoquée, blocage disparaissant en dix à douze jours, et ils vérifient l'effet spermato-libérateur de l'adrénaline déjà indiqué par Robbins et Parker dans *Endocrinology*, qu'ils ne retrouvent ni chez *Bufo arenarum*, ni chez les crapauds indigènes.

Bourgarel et Moutte employant *Bufo mauritanicus* insistent sur la rapidité et la fidélité de la réaction.

Bown, en signalant son échec avec *Rana temporaria*, rapporte ses résultats avec *Rana esculenta* : 11 % d'erreurs dans les aménorrhées de moins de quinze jours, 2 % de quinze jours à trois mois et demi et 5 % à trois mois et demi; il a 4 erreurs sur 5 cas de grossesse extra-utérine.

Pour Palliez et Cotteel, le facteur saisonnier ne semble pas avoir d'influence, et ces auteurs signalent la sensibilité un peu plus marquée du crapaud par rapport à la lapine. Mais, pour eux, il convient d'injecter du sérum, l'urine ayant une concentration trop inconstante.

Rouchy et Crézé publient 106 essais de *Bufo bufo* et de *Rana esculenta* comparativement avec le test de Friedmann, tantôt avec les urines, tantôt avec le sérum. Un seul résultat discordant, sans renseignement clinique. La réaction de Galli-Maïnini est aussi sensible et aussi fidèle que la réaction de Friedmann, elle est rapidement positive au début de la grossesse (un cas de retard de quatre jours) et devient plus rapidement négative en cas de mort de l'œuf. Mais ils signalent les différences individuelles et surtout saisonnières qu'ils compensent par l'emploi d'un grand nombre d'animaux.

Crézé rapporte, à la Société de biologie, que la migration spermatique est provoquée par le prolan B : l'urine de femme enceinte en est riche, tandis que le prolan A est sans action : le crapaud et la grenouille sont insensibles à l'action du sérum de jument gravide qui contient surtout F. S. H.

Dans la *Presse médicale*, H. et M. Hinglais signalent les fréquences des réponses faussement négatives et reviennent sur les larges variations de sensibilité et sur l'importance du phénomène de blocage des testicules, à la suite d'une première émission de spermatozoïdes, phénomène qui influe grandement sur la sensibilité du réactif pendant la période génitale active, qui s'étend en France de mars à juin, suivant les espèces.

Pour ces auteurs, l'usage des amphibiens mâles, pour le dosage clinique des hormones gonadotropes, soulève des difficultés qui en compromettent gravement l'application en pratique courante.

Parmentier étudie l'influence de la température et de l'eau; il indique la nécessité de conserver les grenouilles dans l'eau et à 20° C., et pour lui l'âge de la grossesse n'a pas d'influence.

Sirjean met en évidence la différence des taux sériques et urinaire du prolan B : deux observations montrent qu'il y a respectivement quatre et cinq fois moins d'hormones dans les urines que dans le sérum.

L'école bordelaise a également apporté sa contribution.

Servantie et Chapoux, dans leur rapport à la Société de biologie, notent le manque de netteté de la réponse de *Rana esculenta* par rapport à celle de *Bufo bufo*.

Chapoux, dans sa thèse soutenue en juillet 1948 à Bordeaux, étudie l'emploi de *Bufo vulgaris* et de *Rana esculenta*, hypophysectomisées ou non, et nous ne pouvons mieux faire que de prier le lecteur de vouloir bien se rapporter à cette thèse.

Magendie, Servantie et Chapoux, à la Société française de gynécologie, comparant le crapaud à la grenouille, mettent l'accent d'une part sur les difficultés d'approvisionnement du crapaud, de l'autre sur la plus grande sensibilité de cet animal par rapport à la grenouille.

CHAPITRE II

PRATIQUE DU TEST CHEZ « RANA ESCULENTA »

Il faut :

1° des grenouilles mâles *Rana esculenta* de 10 à 20 grammes.

2° des pipettes Pasteur;

3° des lames et des lamelles;

4° un microscope grossissant 100 fois;

5° des seringues :

les unes de 2 cm^3 ordinaires;

les autres, genre seringue pour insuline divisée en 1/20 de centimètre cube;

6° des aiguilles fines pour injection intra-musculaire;

7° des bocaux en verre genre bocal à conserve de 1/2 litre.

L'animal réactif : « Rana esculenta ».

Depuis longtemps, nous nous adressons à *Rana esculenta* pour le diagnostic biologique de la grossesse par le test des mélanophores et l'idée d'employer le même animal qui nous était familier pour le test de C. Galli-Maïnini était toute naturelle.

Quelques essais avec *Hyla arborea*, la rainette, se sont soldés par des échecs.

Il existe en France trois espèces de grenouilles :

Rana agilis, vivant surtout dans les bois;

Rana temporaria, la grenouille rousse peu résistante, dont les essais d'utilisation auraient échoué (Bown, Crézé; Seiglan dans sa thèse souligne l'in-

térêt que présente cet animal apparu tôt au printemps avant *Rana esculenta* et disparu plus tard qu'elle);

Rana esculenta, la grenouille verte, qui varie du vert vif au vert olive, avec des taches noires, passe sa vie dans les étangs. C'est celle que l'on se procure facilement à Bordeaux.

Moyen de se le procurer.

Le test gonadotrope demandant des animaux de faible poids : 5 à 30 grammes, les poissonniers voient ainsi s'ouvrir un débouché pour des animaux non commerciaux; et une grande partie de l'année, durant la belle saison, un simple coup de téléphone suffit à assurer le renouvellement du stock. Nous voilà bien loin des difficultés d'approvisionnement qu'aurait entraîné le choix d'une espèce exotique ou même simplement du crapaud (Magendie, Servantie, Chapoux). Et ceci nous permet d'employer pour le même test une quantité d'animaux souvent importante sans alourdir énormément le prix de revient, ce qui doit entrer, hélas ! en ligne de compte actuellement.

La grande résistance de *Rana esculenta* lui permet de s'accommoder de conditions d'habitat sommaires : un aquarium avec un centimètre d'eau courante sans nourriture, sans beaucoup de lumière, suffit pour de nombreux jours. En temps ordinaire, les besoins du laboratoire sont ainsi facilement couverts.

Conservation.

Mais ce sont là des conditions d'habitat incompatibles avec une longue survie. En effet, au bout de quelques semaines, les grenouilles présentent de l'œdème, des ulcérations cutanées, qui sont peut-être en rapport avec les heurts contre les parois de l'aquarium, et la mortalité croît rapidement. Cependant, certains animaux survivent plusieurs mois, bien que jamais nous n'ayons constaté une survie aussi longue

que celle signalée par Rives, qui atteignit quatre mois. Il est vrai que nos animaux sont d'un poids très faible.

Si donc, en temps ordinaire, pendant la belle saison, un simple coup de téléphone à donner résume toutes les difficultés d'approvisionnement, dès novembre les conditions changent. Ces facilités sont disparues, remplacées par des difficultés de conservation très importantes.

Les essais pour maintenir en vie une grande quantité d'animaux pendant les mois d'hibernation se sont soldés jusqu'à maintenant par des échecs, la mortalité devient considérable, et, vers la fin du mois de décembre, il n'y a plus un seul animal en vie.

Ce fut d'abord l'échec des essais menés uniquement à l'aide d'un bassin contenant de l'eau; puis celui des essais menés à l'air libre avec bassin, terre couverte d'herbe, le tout entouré d'un grillage fin et maintenu vertical. Une fois, tous les animaux crevèrent; une autre fois, ils s'échappèrent. Le grillage était bien assez haut, mais n'avait pas été recourbé vers l'intérieur à sa partie supérieure. Les animaux avaient grimpé et étaient passés par-dessus. Un essai de terrarium complètement artificiel (en cave) se solda par une faillite complète.

Les causes de ces échecs résident, selon nous, dans les trop grandes différences existant entre l'habitat créé et les conditions habituelles d'hibernation : eau, terre ou sable ou même boue, température, éclairage... De plus, le problème se complique du fait de la grande quantité d'animaux à conserver. Il semble qu'il faille les grouper par petites quantités, dans des terrariums séparés, reproduisant les conditions d'hibernation normales : sable, rocher, eau,... et situés en plein air. On limiterait ainsi les risques d'infection; une surveillance quotidienne permettrait de rejeter les cadavres, et il y aurait lieu d'envisager l'emploi d'un désinfectant approprié dans l'eau des terrariums.

De toute manière, le but recherché n'est pas la survie de tous les animaux, mais l'approvisionnement du laboratoire jusqu'en avril par des moyens simples.

Nous n'avons pas parlé de l'alimentation des animaux. Ponse utilisant des crapauds les nourrit avec des vers de terre l'été, des vers de farine l'hiver, avec également sauterelles, mouches. Mello y ajoute des tranches de foie. Les essais d'alimentation avec du blanc d'œuf sont à ajouter à la liste de nos échecs.

Contrôle du sexe de l'animal.

Toute grenouille qui a franchi l'étape larvaire est sexuellement mûre et peut être utilisée, bien qu'elle soit souvent d'un poids inférieur à notre moyenne.

La région anale ne comporte aucune différence sexuelle, mais il est toutefois facile de distinguer le mâle de la femelle.

Pour Anglas, la femelle se reconnaît aisément lorsque son abdomen est distendu par des œufs, le mâle présente toujours une taille plus fine. Mais c'est là une différence délicate à apprécier, heureusement nous avons à notre disposition deux caractères bien tranchés.

A l'examen des *doigts des pattes antérieures*, on peut différencier le mâle de la femelle. Les quatre doigts de cette dernière sont également effilés, alors que la base du doigt le plus interne présente chez le mâle un renflement caractéristique correspondant à un premier doigt atrophié (Anglas).

Une autre différence importante : le mâle seul possède deux *vessies vocales*. Quand il coasse, on voit se gonfler en arrière de la bouche, de chaque côté, un sac. Et, même au repos, il existe une différence, c'est une fente située sous le tympan qui n'existe pas chez la femelle et par laquelle sort la vessie vocale.

Contrôle de l'urine de l'animal.

L'animal, emprisonné dans la main gauche, les pattes repliées sous lui, présente l'ouverture de son cloaque, qu'il suffit de cathétériser à l'aide d'une pipette Pasteur.

L'introduction de cette pipette provoque l'émission d'urine, que l'on voit monter.

Si cette manœuvre échoue, des pressions lombo-abdominales permettent d'exprimer l'urine. Mais, avec un peu de patience, on en obtient toujours une quantité suffisante.

On dépose une goutte d'urine entre lame et lamelle. Avoir soin, au besoin, en soulevant la lamelle, d'emprisonner de l'air, qui donnera de *petites bulles* sur lesquelles se fera la mise au point. En effet, il existe trois plans sur lesquels on peut mettre au point, et tous les trois présentent peu de différences pour un œil non averti : face supérieure de la lamelle, urine, face inférieure de la lame. La bulle d'air est un repère précis. Visez le bord d'une bulle, qui doit se présenter comme un trait noir plus ou moins important, et déplacer alors la platine pour rechercher les spermatozoïdes.

L'emploi du fond noir nous paraît inutile, mais il faut diaphragmer à fond.

L'urine ne doit pas contenir de spermatozoïdes, sinon prendre un autre animal.

L'on devine la nécessité de plusieurs aquariums ou de plusieurs terrariums : un pour les animaux n'ayant pas servi, un autre, ou mieux plusieurs autres, pour ceux qui ont déjà subi une injection, de manière à les laisser au repos quelques jours.

Nous rappelons que, classiquement, il existe un mécanisme spécial qui bloque la sensibilité du testicule après une première émission intensive de spermatozoïdes, ce blocage disparaissant en dix à douze jours (Hinglais). Il nous semble que ce temps peut être raccourci sans inconvénient.

Injection dans le sac lymphatique crânio-dorsal.

Quel liquide ?

Evidemment, tout liquide dont on recherche l'activité gonadotrope. Mais, pour le diagnostic de la grossesse, nous nous servons à peu près exclusivement de sérum. Nous savons que

la plupart, presque la totalité des ouvrages consultés, font mention de l'emploi d'urine concentrée ou non. Palliez et Cotteel, Sirjean, insistent sur le taux des hormones gonadotropes dans le sérum plus élevé que dans les urines et relativement constant pour la date de la grossesse.

Si l'urine fermente rapidement, le sérum est intact, même après quelques jours. Signalons l'avantage que cela comporte pour les envois par la poste. Surtout que la grenouille peut supporter un sérum hémolysé et même, si certains animaux crèvent, le diagnostic peut être établi grâce aux survivants sans perte importante ni d'argent, ni de temps.

Prélever un volume important de sang : 20 cm^3 sont nécessaires; on obtient ainsi une quantité de sérum qui permet au laboratoire d'injecter un nombre suffisant d'animaux et au besoin de recommencer.

Dans les cas où une dilution doit être pratiquée, on utilise pour ce faire indifféremment de l'eau distillée ou du sérum isotonique. L'injection est en général de 1 centimètre cube.

Technique de l'injection.

Après avoir garni la seringue, saisir l'animal, les membres inférieurs étendus, en les pinçant à la hauteur des genoux entre médius, index et pouce de la main gauche.

Enfoncer l'aiguille fine dans la partie interne de la cuisse droite, à 1 centimètre de la racine du membre, l'animal reposant sur le bord de la table.

Pousser l'aiguille dans les muscles de la cuisse, charger une épaisseur de muscle, puis revenir vers les téguments; dans la direction d'un point situé à quelques millimètres en dehors de l'anus, il faut que l'aiguille à ce moment soit superficielle. Pour cela, lever l'animal, ou mieux lui appuyer le dos sous le rebord de la table. L'aiguille chemine alors facilement immédiatement sous la peau. Le biseau étant arrivé à hauteur de la dernière vertèbre dorso-lombaire, injecter le liquide. Le sac lymphatique crânio-dorsal se dessine des narines à l'anus, limité par deux lignes d'adhérence courant dorsalement d'avant en arrière.

Mettre l'animal dans un bocal, avec quelques centimètres d'eau, et noter directement sur le couvercle l'heure de l'injection en plus des autres références nécessaires.

Nous employons donc la méthode de Servantie pour éviter le danger du reflux du liquide injecté. Les muscles traversés par l'aiguille font office de sphincter. D'ailleurs, on peut reconnaître dans une certaine mesure s'il y a eu reflux par la coloration du liquide du bocal.

Période d'attente.

Si l'apparition des spermatozoïdes peut être précoce : une demi-heure après l'injection, il faut cependant savoir être patient, et, dans quelques cas, des grenouilles négatives deux heures après l'injection deviennent positives au bout de sept heures. Dans certains cas, cette limite même ne suffit pas, et il faut examiner les urines le lendemain matin.

Lecture du test.

Donc, passé un temps que l'expérience a fixé entre trois heures et demie et quatre heures, il faut de nouveau recueillir un peu d'urine et l'examiner au microscope.

Un test est dit positif si ce second examen révèle la libération de spermatozoïdes plus ou moins nombreux, plus ou moins mobiles. Petit bâtonnet six à sept fois plus long que large, muni d'un flagelle fin et long comme trois fois le bâtonnet lui-même.

Une notation à l'aide de croix sert à marquer la positivité du test. Une croix : présence de peu de spermatozoïdes, puis le nombre de croix va en augmentant avec le nombre de spermatozoïdes. Il est bien évident que cette notation n'est qu'une indication grossière et dépend de l'expérimentateur.

Si, au bout de quatre heures, la réponse est négative, un second examen trois heures après sera effectué, et, nous le répétons, un troisième examen dix-huit à vingt heures après peut être nécessaire.

Un diagnostic différentiel doit être envisagé dans certains cas. Non avec les parasites ordinaires de la grenouille : ascaris, douves, infusoires, qui sont facilement éliminés d'après leur aspect, mais avec une bactérie ayant à peu près les mêmes formes (bâtonnet) que le spermatozoïde, mais beaucoup plus petite. L'expérimentateur, au début de ses recherches ou à la suite d'un changement de microscope, passant d'un grossissement de 100 à un grosisssement de 300 à 400, peut être bien perplexe.

L'étude des mouvements permet d'éliminer un autre parasite qui présente des dimensions voisines de celles du spermatozoïde : le parasite se meut en chien de chasse, se déplaçant vite et sur un long parcours, alors que le spermatozoïde présente des mouvements pendulaires sur place.

CHAPITRE III

RESULTATS OBTENUS

Nous tenons tout d'abord à bien signaler les conditions dans lesquelles furent pratiqués, au laboratoire de la Clinique obstétricale de Bordeaux, les tests que nous allons rapporter.

Loin de choisir les femmes avec le sérum desquelles l'on injecterait les grenouilles, c'est 99 fois sur 100 pour des raisons cliniques que des médecins divers, à l'occasion de consultations publiques ou personnelles, nous envoient du sang. Il est bien évident qu'il s'agit alors de diagnostic en suspens pour une raison ou pour une autre : aménorrhée récente, grossesse douteuse, utérus fibromateux, utérus peu développé, grossesse à équilibre endocrinien modifié, menaces d'avortement...

Ce sont les résultats d'une expérience pratique que nous rapporterons, et, sans craindre de devenir importun, nous donnerons tous les détails cliniques ou techniques qui nous sembleront présenter un intérêt même minime pour l'homme de laboratoire ou le clinicien.

Nous suivrons le plan suivant :

1° Résultat brut : Lecture des grenouilles injectées par le personnel du laboratoire;

— final : réponse du laboratoire au clinicien;

2° Discussion et enseignement des tests passés.

Résultats.

Sur tous les tests pratiqués au laboratoire depuis deux ans, nous avons pu vérifier l'exactitude ou l'inexactitude de 228 d'entre eux : il s'agissait de savoir si oui ou non il y avait

grossesse. Les menaces d'avortement seront envisagées plus loin.

423 grenouilles ont été injectées pour ces tests : 193 d'entre elles répondirent positivement, avec 5 réponses fausses; 230 d'entre elles répondirent négativement, avec 39 réponses fausses, ce qui donne un pourcentage d'exactitude dans les réponses positives de 97,4 % et dans les réponses négatives de 83,04 %, avec un taux global d'exactitude de 89,59 %.

Mais il ne faudrait pas déduire immédiatement de ces chiffres que le laboratoire a donné 10,41 % de réponses erronées.

Nous nous sommes efforcé d'injecter plusieurs animaux pour chaque test, et les réponses fausses de certaines grenouilles ne se sont pas répercutées avec le même taux sur les réponses fournies aux cliniciens.

Sur 228 réponses, 17 furent erronées :

16 fois le laboratoire répondit négativement, il avait tort;

1 fois, il fut dans l'erreur en répondant positivement, ce qui donne un pourcentage de 7,45 %, donc le total global d'exactitude est de 92,55 %.

Discussion.

Le recul du temps, le contrôle clinique des résultats, nous permettent de tirer de nos erreurs certains renseignements.

A. Nombre d'animaux employés.

48 fois, il n'y eut qu'un animal injecté, avec 6 erreurs, entraînant un pourcentage de 12,5 %.

180 fois, plusieurs grenouilles furent injectées, ce qui abaisse le taux erreur à 7,2.

Donc, injecter plusieurs animaux; trois nous paraît un chiffre offrant toute sécurité.

B. Erreurs.

Il y eut 19 erreurs.

Voyons tout d'abord les *douloureuses erreurs positives*.

A l'encontre des expériences des Hinglais, pour lesquels les causes d'erreur dans le sens positif sont pratiquement inexistantes, nous trouvons 5 grenouilles faussement positives. Déjà Robbins et Parker, Gardner et Nancy en avaient signalé.

— Une fois, il n'y eut pas de conséquences. Dans un test à quatre animaux, l'un répondit positivement. Il n'en fut pas tenu compte, car on avait la quasi-certitude d'une erreur technique.

— Une autre fois, le laboratoire fut dans l'erreur : c'est le cas de Mme Mo..., qui, le 19 mai, fut réglée normalement, perdit du sang rouge en petite quantité du 15 juin au 7 juillet. Elle entra à l'hôpital le 7 juillet et vit, le 7 au soir et le 8, augmenter ses hémorragies. Le 10 juillet, le laboratoire injecta 1 cm³ de sérum à quatre grenouilles : au bout de sept heures, deux étaient négatives, une répondait avec une intensité moyenne et la dernière émettait quelques spermatozoïdes. Il fut donc répondu : Mme Mo... est enceinte. Les hémorragies s'arrêtèrent deux jours après, et elle fut normalement réglée par la suite.

Il s'agissait probablement d'un avortement.

Pour Mme Be..., le laboratoire enregistra deux réponses dissociées. Cette femme de 39 ans, mère de quatre enfants, a subi en 1948 une ovariectomie; elle eut depuis ses deux derniers enfants. Elle est toujours réglée régulièrement, mais ses règles ont diminué d'abondance, ne durent que deux jours, et de plus un syndrome de Raynaud est apparu.

Les dernières règles remontant au 7 septembre, le 13 octobre on trouve au toucher un col dur, un corps utérin petit, dur, déjeté à gauche. Deux frottis ne permettent pas de poser de diagnostic; deux grenouilles sont injectées : l'une est moyennement positive; l'autre reste négative. Le laboratoire demande alors à renouveler les examens.

Le 20 octobre, un second test est pratiqué avec du nouveau sérum. Sur les deux grenouilles : une reste négative, l'autre est fortement positive. Mais le frottis est du type folliculinique et s'oppose à l'idée de grossesse.

Le 28 du même mois, apparaissent des hémorragies très abondantes, qui durent huit jours sans caillots, et, le 3 novembre, trois grenouilles sont négatives.

A aucun moment, les données cliniques ne se sont modifiées.

Deux explications sont possibles :

— avortement;

— hyperprolanurie de type préménopausique, et la cytologie vaginale est plutôt en faveur de cette seconde hypothèse.

En résumé, ces trois erreurs s'expliquent :

— la première, par une faute technique;

— la deuxième, par un avortement, et vraisemblablement ce n'était qu'une erreur apparente;

— la troisième seule représente l'erreur totale. Mais il faut remarquer que ce n'est pas une erreur imputable au test de la grenouille mâle, mais au principe même des tests biologiques de la grossesse, basés sur l'apparition en quantité importante d'hormones gonadotropes dans les humeurs, et que la pratique simultanée du frottis a permis dans ce cas, par la dissociation des réponses, d'éliminer la grossesse.

Nous savons que Robbins et Parker, puis H. et M. Hinglais, ont décrit l'effet spermato-libérateur de l'adrénaline. Mais il n'y a que ce produit qui ait donné les mêmes réponses que l'hormone gonadotrope.

Il est peu probable que, dans nos cas, il se soit agit de l'adrénaline.

Il y eut 16 *réponses négatives fausses.* Nous avons groupé ces erreurs par les raisons qui les expliquent.

Deux cas à réponses dissociées. Nous qualifions ainsi le test au cours duquel les grenouilles répondent les unes positivement, les autres négativement.

Mme Po... ayant eu ses règles du 14 au 18 mai, son médecin demanda, le 20 juin, un test des gonadotropes, parce que sa cliente présentait des pertes rosées, irrégulières, depuis

le 8 juin, avec quelques filets marron. On injecte quatre animaux, que l'on examine après cinq heures et demie : deux sont positifs, deux sont négatifs, et, comme on a pratiqué un test des mélanophores qui s'est avéré négatif, on répond : Mme Po... n'est pas enceinte. La suite de son histoire clinique démontra le contraire.

Mme T... est supposée enceinte d'un mois et demi. Quatre animaux sont injectés et examinés. Trois sont négatifs, un est positif, mais après neuf heures. La réponse fut fausse : deux semaines plus tard, le test était indubitablement positif, et depuis Mme T... a accouché.

A l'époque où ces dosages furent effectués, nous ne tenions pas suffisamment compte de l'importance du test positif; mais depuis, notre expérience a confirmé la notion déjà connue de la primauté du test positif sur le test négatif. Cependant, il est prudent de suspendre la réponse du laboratoire jusqu'aux résultats de nouvelles injections, en employant au besoin une quantité double de sérum.

Aménorrhée récente. — Un test fut pratiqué aux environs du vingt-cinquième jour de la grossesse. Le test de Mme Po..., déjà étudié, était demandé aux environs du vingt-troisième jour. Mais, vingt jours plus tard, donc aux alentours du quarante-cinquième jour, le test était franchement positif. Ce qui correspond bien avec ce que nous savons des variations du taux des prolans.

Si un test demandé au cours d'une aménorrhée récente se révèle négatif, le recommencer quelques jours plus tard. Cependant, il existe des réponses très précoces et valables. Nous en avons une au vingt-deuxième jour. Crézé signale un test positif avec un retard de règles de quatre jours.

Grossesse de quatre mois ou plus. — Dix réponses fausses furent données à l'occasion de grossesse dans leurs deux derniers trimestres :

2 cas au quatrième mois;
2 cas au cinquième mois;

1 cas au sixième mois;
5 cas au huitième mois.

Ce qui correspond aux publications de beaucoup d'auteurs, dont Bodine, Gardner et Bown.

En cas de grossesse avancée, ne pas se fier exagérément à une réponse négative du test gonadotrope. S'adresser en même temps aux frottis vaginaux, au dosage des G. B. S. et à la clinique.

Urines fermentées. — Une autre réponse négative fut la conséquence d'une injection d'urine prélevée depuis plusieurs jours à un animal qui avait beaucoup servi. Ceci confirme l'expérience que nous avions acquise avec la grenouille hypophysectomisée, et, en cas d'injections d'urine fermentée, une réponse positive conserve sa valeur, mais une réponse négative ne signifie rien.

Animal épuisé. — L'emploi d'un animal trop utilisé pour un test, avec cependant injection de sérum, fut la cause d'une autre erreur. Le bas prix de revient du test doit inciter à injecter plusieurs animaux, nous l'avons déjà dit, et à les laisser au repos un temps suffisant.

Erreur inexpliquée. — Il reste une erreur totale qui nous fournit l'occasion de passer en revue les causes techniques d'erreurs. Trois grenouilles furent injectées pour M^me^ Ch..., âgée de 16 ans, de type infantile, enceinte de un mois. Les trois grenouilles répondirent négativement.

Pourquoi ? Peut-être s'agit-il ici d'erreur technique.

— *Erreur sur le sexe de l'animal :* La vessie vocale est, à notre avis, le meilleur moyen de diagnostic, sans possibilité d'erreur. Presque toujours on peut faire coasser l'animal, en le pressant, en lui grattant le dessous de la gorge. Si l'on n'y arrive pas, un examen soigné de la partie latérale de la tête, en avant de la ceinture scapulaire, permet de voir la fente par laquelle sort la vessie vocale.

— *Reflux d'une partie ou de la totalité du liquide injecté.*

malgré l'emploi de la technique de Servantie. Bien pénétrer dans les muscles de la cuisse et ne pas rester superficiel. Se méfier d'ulcérations dorsales par lesquelles le liquide peut s'échapper.

— *Lecture trop précoce :* Un test positif peut être lu tôt. Mais un test négatif au bout de quatre heures doit être lu trois heures après, puis le lendemain.

— *Erreur de tube :* Malgré toutes les précautions prises et prenables, il y aura toujours des erreurs de cette sorte.

Mais se souvenir de l'épouvantable catastrophe qui peut quelquefois découler d'une réponse faussement négative.

C'est sur le chariot qui la transportait en salle de radiographie pour un lipiodol intra-utérin que l'un des membres du laboratoire retrouva une femme pour laquelle le test s'était révélé positif tardivement.

Tous les résultats rapportés au début de cette thèse donnent un taux global d'exactitude supérieur à 84 %, chiffre de Sharnoff et Zaïno.

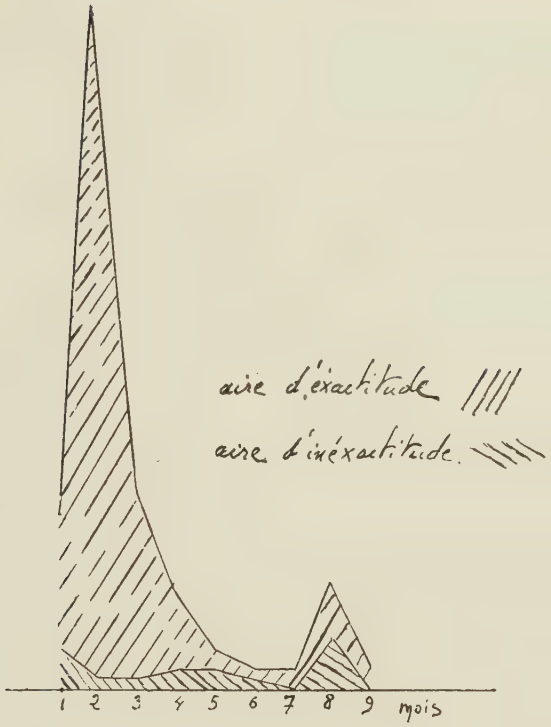
Nous rappelons dans un tableau les travaux effectués avec des espèces indigènes.

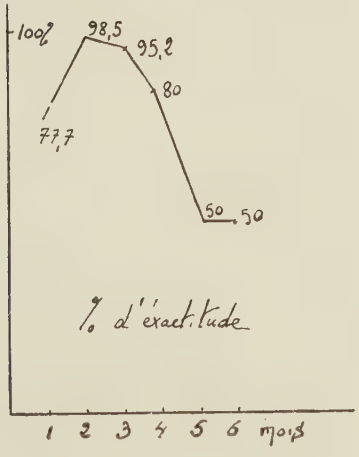
AUTEURS	NOMBRE DE CAS	TAUX D'EXACTITUDE	ANIMAL
Bedoya	237	99,16 %	*Rana esculenta*
Andueza	299	98,7 %	—
Bach et coll.	610	99,35 %	—
Biernacka	103	98,1 %	—
Fotin et coll.		99 %	—
Klopper	101	92,1 %	*Bufo vulgaris*

Nos chiffres sont un peu inférieurs, puisque nous rapportons 228 cas avec 92,55 % d'exactitude, taux global se décomposant ainsi :

112 tests positifs, avec une erreur, soit 99,10 %;
116 tests négatifs, avec 16 erreurs, soit 86,20 %.

Il nous faut signaler que la technique proposée au début n'est pas la première que nous ayons employée, mais celle que nous croyons la meilleure.


aire d'exactitude
aire d'inexactitude
1 2 3 4 5 6 7 8 9 mois


100%
98,5
95,2
80
77,7
50
50
% d'exactitude
1 2 3 4 5 6 mois

REPONSES DISSOCIEES — LEUR SIGNIFICATION

Nous avons déjà dit ce que nous entendions par là, et 13 fois nous avons obtenu ces réponses.

Huit fois la primauté du test positif l'emporta, et la réponse fut exacte.

Une fois nous avions la quasi-certitude d'une erreur technique, et nous n'avons pas tenu compte de la grenouille positive.

Deux fois les grenouilles positives avaient tort, nous avons déjà étudié ces tests.

Deux fois, en ne tenant pas compte des réponses positives, il y eut erreur, la majorité des animaux avait répondu affirmativement (M^me^ T...); une grenouille hypophysectomisée fit pencher la balance du mauvais côté (M^me^ Po...).

Il semble que ces réponses dissociées traduisent un taux hormonal relativement bas. Elles se retrouvent dans les cas d'avortement, dans les grossesses extra-utérines, et, sur nos 13 cas, 7 grossesses avaient moins de deux mois, 3 avaient deux mois, une même n'avait pas un mois.

Mais les différences de sensiblité individuelle de l'animal-réactif entrent également en jeu.

LE TEST DES GONADOTROPES DANS LA GROSSESSE EXTRA-UTERINE

Nous avons relevé 6 cas de grossesse extra-utérine confirmée; dans 3 cas, nous n'avons pu obtenir aucun détail : pour l'une, Mme A..., 6 grenouilles avaient répondu positivement; pour Mme D..., 3 grenouilles étaient négatives, et Mme Pa... présenta des accidents trois jours après la réponse négative d'une grenouille. Heureusement, dans 3 cas, nous avons pu avoir des renseignements moins succincts.

Le 29 septembre, le Service de gynécologie du Professeur Magendie demanda un test des gonadotropes pour Mme G..., qui avait eu ses règles le 3 juillet; après quatre heures, la réponse d'une première grenouille fut nettement positive, alors que celle d'une seconde était négative. Le 3 octobre, deux grenouilles furent négatives. Le 5, à l'ouverture du péritoine, le chirurgien trouva du sang avec des caillots, et la trompe droite présentait dans la région ampullaire un renflement du volume d'un « œuf de dinde ».

Mme P... (service du Professeur Rivière, fiches 125 et 162; service du Professeur Magendie, obs. 653), déjà publiée par Seiglan; VII-geste, grossesse extra-utérine et pelvipéritonite antérieure, eut ses règles du 14 au 18 mai. A partir du 8 juin, petites pertes rosées irrégulières. Le 12 juillet, corps utérin peu augmenté de volume; on perçoit une petite masse latérale gauche. Deux grenouilles sont très fortement positives.

Le 18 juillet, deux grenouilles sont négatives.

Le 19, crise douloureuse, brutale, abdomen impalpable, ne respirant pas. Signe de Nard. Intervention : « Volumineux caillot dans le cul-de-sac vésico-utérin et au milieu la trompe gauche présentant à sa partie moyenne un renflement du volume d'un petit œuf. Du sang suinte par le pavillon. A l'incision : placenta qui

est épais; au centre, petite cavité amniotique; on aperçoit un petit embryon. »

Mme Dr... présente un retard de trois jours, avec un cycle de vingt-cinq jours, avec petites pertes et douleurs.

Quatre grenouilles sont positives, mais tardivement. Les pertes continuent, des lipothymies apparaissent. Dix jours après, trois grenouilles sont négatives. Dans un laboratoire de ville, deux grenouilles sont également négatives, mais la réaction de Friedmann avec 3 cm³ est positive.

A l'intervention, grossesse du pavillon.

Ainsi les réponses dans les cas de grossesse extra-utérine sont tantôt positives, tantôt négatives, et bien souvent les cliniciens nous reprochent une réponse qui leur paraît sans intérêt.

La grenouille ne donne de renseignements que sur la présence ou l'absence d'une quantité importante d'hormone gonadotrope, et sa sensibilité est équivalente sinon (Sirjean) supérieure à celle de la lapine.

Une réponse positive signifie : il y a grossesse, mais la grenouille ne donne aucune précision sur le lieu de la nidation; une réponse négative peut tout aussi bien signifier absence de grossesse qu'œuf mort.

Dans le cas de Mme P..., la réponse positive du 12 juillet confirmait le diagnostic clinique et n'était pas sans intérêt.

Les réponses négatives isolées de Mme D... et Mme P..., évidemment, n'ont pas grand intérêt. Mais nous croyons que la comparaison des réponses données au cours de l'évolution d'une grossesse suspecte peut être riche d'enseignements. Ainsi les premiers tests établis pour Mmes D..., G... et P..., suspectées cliniquement de grossesse extra-utérine, ont bien établi qu'il y avait grossesse. Puis les réponses devinrent négatives respectivement dix, quatre et six jours plus tard. C'est bien là l'évolution habituelle de la grossesse extra-utérine. Mais la grenouille est négative avant l'apparition des accidents : ainsi Mmes G... et Dr... furent opérées avant, et, pour Mme P..., ils éclataient vingt-quatre heures après.

En conclusion, nous pensons qu'en cas de grossesse extra-utérine suspectée, le test gonadotrope peut donner :

soit une réponse positive, le diagnostic est alors confirmé;

soit une réponse négative, qui ne confirme ni n'infirme les données cliniques.

Enfin, l'évolution habituelle des grossesses extra-utérines vers l'avortement se traduit par des tests d'abord positifs, puis négatifs.

COMPARAISON DU TEST GONADOTROPE AVEC LE TEST DES MELANOPHORES

Le Laboratoire de la Clinique obstétricale de Bordeaux a d'abord utilisé comme test biologique de la grossesse uniquement la réaction des mélanophores chez la grenouille hypophysectomisée. Puis, petit à petit, il s'est tourné vers le test gonadotrope. Actuellement, l'emploi de la grenouille hypophysectomisée est réservé à certains cas, dont la vérication de quelques tests de la spermatogénèse et les dosages.

170 grenouilles mâles entières ont été injectées en même temps que des grenouilles hypophysectomisées.

151 fois les grenouilles entières et hypophysectomisées répondirent de la même manière, mais 8 fois elles avaient tort, ce qui, sur 82 tests, entraîna 4 erreurs, parmi lesquelles on décomptait une erreur positive déjà vue (M^me^ Mo...) et 3 erreurs négatives, dont M^mes^ Po... et T...

14 fois les grenouilles entières répondirent à l'opposé des grenouilles hypophysectomisées et 4 fois elles eurent raison.

Ce qui sur sur 9 tests entraîna :

7 erreurs pour la grenouille entière;
2 erreurs pour la grenouille hypophysectomisée,

soit, sur les 91 tests pratiqués comparativement :

6 erreurs pour le test des mélanophores, soit 6,59 %;
11 erreurs pour le test des gonadotropes, soit 12,08 %.

Les erreurs du test des mélanophores sont étudiées dans la thèse de Seiglan, et nous prions le lecteur de vouloir bien s'y reporter.

Constatons que, dans les 91 cas comparatifs, le test gonadotrope était grevé d'un taux d'erreur double de celui du test des mélanophores, et nous écrivons bien « était grevé », car nous nous sommes déjà expliqué sur ces erreurs, et le test de M^me^ Ch... n'entre pas dans cette comparaison.

LE TEST DES GONADOTROPES EN CAS DE MENACE D'AVORTEMENT

Question des plus confuses, certains gynécologues allant jusqu'à nier tout intérêt au test des gonadotropes dans ces cas. Il est vrai que les résultats semblent paradoxaux apparemment.

Nous citerons quelques observations.

Mme R..., dont les dernières règles remontent au 12 mars, présente, le 23 avril, une forte hémorragie avec caillots. Le 28, petites pertes rosées. Le 2 mai, elle expulse son fœtus. Deux jours plus tard, une grenouille est positive.

Mme T..., qui n'a pas été réglée depuis son accouchement, en février, présente des pertes de sang abondantes le 14 juin. A cette date, une grenouille est positive. Le 18 juin, deux grenouilles sont positives. Le 24 juin, perte importante, avec colique utérine; dans le col dilaté, on sent une masse mollasse de la grosseur d'un œuf. Le curetage ramène des débris placentaires. Trois jours plus tard, une grenouille est positive.

Mme V... est réglée le 12 mai. Le 15 juin, tentative d'avortement par injection d'eau savonneuse. Le 18, colique utérine. Les 3 et 5 juillet, pertes hémorragiques. Curetage le 8 juillet. Le 10, une grenouille est négative, mais une autre est positive.

Mme G..., enceinte de 2 mois 1/2, avorte après avoir présenté des pertes hémorragiques pendant une semaine. Trois jours après, réponse dissociée des grenouilles. Le lendemain, trois grenouilles sont négatives, et le curetage ramène des débris placentaires trois jours plus tard.

Nous avons collationné 30 tests, dont certains furent demandés avant l'avortement, d'autres après.

8 tests furent pratiqués avant l'expulsion du fœtus;

6 réponses positives :

une à dix jours;
une à six jours;
quatre à cinq jours de l'expulsion.

2 réponses négatives :

une à deux jours;
l'autre à huit jours.

22 fois le test fut pratiqué après l'expulsion du fœtus.

Nous avons 18 cas avec une chronologie précise :

5 réponses positives :

une au deuxième jour après;
trois au troisième jour;
une au quatrième jour.

8 réponses négatives :

deux au deuxième jour;
deux au troisième jour;
une au quatrième;
une au cinquième;
une au sixième;
une au huitième.

4 réponses dissociées :

deux au premier jour;
une après quarante heures;
une après trois jours.

Que penser de ces résultats apparemment si paradoxaux ? Il nous semble que l'on peut leur trouver une explication. Si l'on admet que la présence d'hormone gonadotrope dans les humeurs est liée à la présence d'un trophoblaste actif, même en petite quantité, on comprend les réponses positives survenant après l'évacuation spontanée ou artificielle

que l'on ne peut affirmer être complètes, et l'on comprend également les réponses négatives précoces qui traduisent la mort de l'œuf.

La conduite à tenir est celle-ci :

— si la réponse du test gonadotrope est positive, la prudence veut que l'on suspende toute intervention manuelle ou instrumentale jusqu'à modification du test ou de la clinique avec apparition de signes d'urgence;

— si la réponse est négative, nous conseillons une vérification de prudence. En aucun cas, nous ne pensons qu'on puisse arguer d'une réponse négative pour décider l'intervention, ce qui est du ressort de la clinique.

Une expérience trop courte ne nous permet pas d'affirmer, mais seulement de proposer le dosage de l'hormone gonadotrope dans les menaces d'avortement. Pour une grossesse de 2 mois 1/2 qui paraît menacée :

— si le taux des hormones gonadotropes est inférieur à 500 u-r, la grossesse est vraisemblablement interrompue;

— si le taux est compris entre 500 et 1.000 u-r, la grosse est très menacée;

— si le taux est supérieur à 20.000, la grossesse est probablement normale.

LE TEST GONADOTROPE DANS LA RETENTION D'ŒUF MORT

Nous avons trois cas dans lesquels le fœtus était mort et le volume utérin ne correspondait pas à l'âge de la grossesse, calculée d'après la date des dernières règles.

— Le début probable de la grossesse de Mme L... remontait au 25 janvier. Le 4 juin, on injecte une première grenouille avec 1 cm³ de sérum, puis une seconde avec 1 cm³ 1/2. Les deux sont négatives. Le 12 juin, elle expulse un œuf complet de 4 mois au plus.

Deux grenouilles demandées pour Mme V... sont négatives, et trois jours plus tard le curetage ramène un fœtus macéré.

— Pour Mme N..., les choses se passent de la même manière.

Dans nos trois cas, les tests sont négatifs.

Mais il faut se souvenir qu'après quatre mois de grossesse le test gonadotrope est négatif une fois sur deux pour des gestations normales et que, si un test positif contredit le diagnostic supposé, un test négatif n'en apporte aucune confirmation.

Ainsi donc, dans les cas de rétention d'œuf mort, le test gonadotrope paraît être d'un piètre secours.

DOSAGE DE L'HORMONE GONADOTROPE

Au laboratoire de la Clinique obstétricale, les dosages biologiques demandés au cours d'une grossesse ont été effectués jusqu'à maintenant à l'aide de la grenouille hypophysectomisée — dosage de l'hormone mélanotrope — et nous ne pouvons rapporter que quelques dosages de l'hormone gonadotrope établis sporadiquement à l'occasion de tests qualitatifs.

Dix dosages intéressant des grossesses normales se répartissent ainsi :

Premier mois, deux dosages avec comme maximum de dilution 1/30 et 1/10, correspondant donc, le premier, à 30.000 unités-rana et le second à 10.000 u-r;

Deuxième mois, trois dosages : deux descendent au 1/20, un s'arrête au 1/10;

Troisième mois, un dosage positif seulement au 1/10;

Septième mois, même résultat pour un cas;

Huitième mois, trois dosages avec des variations un peu plus amorties, 1/4, puis 1/2 et 1 cm³.

Tirer des conclusions formelles de ce petit nombre de dosages serait fort imprudent. Toutefois, on n'est pas sans remarquer l'ampleur des variations, et il semble bien que c'est avec raison que les Hinglais attirèrent l'attention sur les variations de sensibilité des grenouilles à l'hormone gonadotrope.

Une fois, on put établir un dosage pour la *môle*. La grenouille était positive pour 1/300 et négative au 1/400, donc il y avait au litre de sérum entre 300.000 et 400.000 unités-rana. Le liquide des vésicules accusait 350.000 unités-rana.

RECHERCHE DE L'ACTION DE L'ADRENALINE

Nous n'avons fait jusqu'à présent que trois expériences avec injection de 1/200 de milligramme.

Deux fois la réponse fut négative, une fois il y eut émission de quelques rares spermatozoïdes.

APPLICATION DU TEST DE GALLI-MAININI AU DIAGNOSTIC DE LA GESTATION DE LA JUMENT

Pour 23 juments, qui depuis ont mis bas, il a été pratiqué 42 tests.

Pas une seule fois il n'y eut un test faussement positif.

16 fois nous avons eu des réponses faussement négatives, ce qui donne un pourcentage d'exactitude de 63,4 %.

L'étude de différents graphiques nous a montré que l'on devait grouper tous les tests par rapport au cinquantième jour de la gestation : avant le cinquantième jour, après le cinquantième.

C'est ainsi que nous trouvons :

— jusqu'au cinquantième jour, 18 tests :

13 faussement négatifs et 5 positifs exacts, pas de positif faux, soit :

72,2 % de cas faux, et, évidemment,
27,8 % de cas exacts;

— après le cinquantième jour, 17 tests s'échelonnant jusqu'au cent septième jour : 3 cas faussement négatifs et 14 positifs exacts, pas de positif faux, ce qui donne :

17,6 % d'erreur,
82,4 % d'exactitude.

Il convient de noter que ce travail a été effectué il y a plus d'un an, dans des conditions techniques laissant à désirer; nous avons le sentiment que cette statistique serait aujourd'hui meilleure.

Malgré ces pourcentages d'erreur élevés, nous voilà loin des conclusions du rapport de J. Creuzé à la Société de biologie en 1949.

Cet auteur y démontre, par l'utilisation d'hormones purifiées, que la migration spermatique est provoquée par le

prolan B : il est possible d'obtenir des réponses avec une dose de 1 U. I. et la réponse est constamment positive avec 20 U. I. Les injections de prolan A, même à des doses de 1.000 U. I., sont inactives.

Creuzé signale que le crapaud et la grenouille seraient insensibles à l'action du sérum de jument gravide qui contient surtout le prolan A, et reprend ces conclusions dans un article de la *Semaine des Hôpitaux*.

Des chiffres rapportés plus haut, nous pouvons déduire :

— avant le cinquantième jour :

un test positif est valable,

un test négatif doit entraîner une nouvelle série à tenir :

a) injecter d'autres animaux avec une plus grande quantité de sérum,

b) attendre la deuxième période et alors refaire les tests;

— après le cinquantième jour :

un test négatif doit entraîner une nouvelle série d'injections avec une quantité de sérum plus forte.

DEUXIÈME PARTIE

VÉRIFICATION DE LA CONCENTRATION DE L'HORMONE GONADOTROPE URINAIRE PAR LA TECHNIQUE DU MOUSSAGE

Si, pour le diagnostic de la grossesse, à l'encontre de beaucoup d'auteurs, nous condamnons l'injection d'urine et nous servons exclusivement du sérum, nous n'ignorons pas que la recherche de l'hormone gonadotrope dans l'urine pourrait rendre de grands services.

Pendant la gestation, nous connaissons des cas au 7e et 8e mois où l'urine contenait aux environs de 1.000 unités-rana par litre, et on est encore loin des quelques dizaines d'unités contenues dans l'urine des femmes non enceintes. Le maximum de centimètres cubes que l'on puisse injecter à une grenouille de la taille de celles que nous employons est de 3, et c'est là un chiffre énorme, souvent le tiers de son poids propre, et encore, avec cette quantité, ne peut-on mettre en évidence qu'une quantité d'hormone correspondant à 333 u-r par litre. Il est impossible de descendre plus bas : d'où la nécessité de concentrer l'urine.

Beaucoup d'auteurs se sont penchés sur la question.

— Zondeck précipite les hormones à pH 4 par 5 volumes d'alcool à 4° C, centrifuge, puis lave à l'acétone et à l'éther.

— Frank et Salmon précipitent à pH 4 par 5 volumes d'acétone, lavent à l'éther et sèchent.

— Scott adsorbe l'hormone sur du kaolin.

— Weisman et Coates précipitent par deux volumes d'acétone et filtrent.

— Zwarenstein et Duncan modifient la méthode de Scott.

— Méthode au kaolin-acétone-éther : adsorption sur kaolin, dissolution par la soude, précipitation par l'acétone, lavage à l'éther, séchage.

— Précipitation par l'acide tannique à pH 4,5-5, ajouter à l'urine 1/20 de son volume d'une solution d'acide tannique à 20 %; mettre le précipité en suspension dans l'alcool à 95°, laver à l'acétone et à l'éther.

— Précipitation par l'alcool simple. Ajouter 8 volumes d'alcool à 95°, lavage par l'alcool absolu et par l'éther.

— Méthode de Llyod, 1949, précipitation alcoolique et dialyse; ajouter à l'urine de vingt-quatre heures 4 volumes d'alcool à 95° à 4° C; laver le précipité à l'éther, dissoudre dans de l'eau; dialyser sur cellophane contre de l'eau courante pendant la nuit; précipiter par 4 volumes d'alcool.

— Bussard concentre l'urine à 1/10 de son volume par moussage. Précipite la mousse par l'alcool à 80° à pH 5 centrifuge et laisse pendant douze heures à 4° C, puis lave à l'acétone et à l'éther.

En 1939, Courrier et Dognon signalent que l'hormone gonadotrope pouvait être totalement extraite de l'urine de femme enceinte par moussage.

Courrier et ses collaborateurs, en 1941, vérifient qu'il en est de même pour la gonadotrophine urinaire de castrat.

Gallien, pour ses expériences, concentre l'urine par la même technique.

Après bien des tâtonnements, des échecs, nous croyons être arrivé à concentrer fortement les urines. Mais une publication américaine de 1942, dont nous venons d'avoir connaissance, nous incite à examiner s'il n'y aurait pas lieu de la modifier encore.

Appareillage.

— Une bouteille d'azote avec mano-détendeur et tuyauterie;

— Tube en verre avec diaphragme en verre fritté, surmonté par :

  — un tube de 20 centimètres et de même diamètre : tube B;

  — un tube de 80 centimètres, toujours du même diamètre : tube C;

  — un entonnoir,

  le tout réuni par des colliers de caoutchouc;

— Des tubes de cellophane pour charcuterie.

Mise en pratique du procédé.

1° *Centrifugation des urines* pour les débarrasser de tout corps étranger, microbes, cellules, etc.

2° *Dialyse.* — Le tube de cellophane qui est employé en charcuterie pour la fabrication des boudins nous sert à éliminer les corps toxiques par dialyse.

Nous n'avons pu nous procurer des tubes à petit diamètre. Ceux employés sont longs de 40 cm. et présentent un diamètre de 4 cm. Les tubes pour saucisses de Francfort auraient mieux fait notre affaire.

Après avoir mis dans le tube 200 à 250 cm^3 d'urine, il faut en rapprocher les extrémités, les plier une ou deux fois et les maintenir ainsi par des pinces.

Le tube est mis dans un récipient avec circulation d'eau. Une baguette de verre passée sous les pinces maintient les extrémités du tube de cellophane un peu au-dessus de l'eau.

On dialyse douze à dix-huit heures.

3° **Moussage-essorage.** — On fait passer l'azote dans un volume d'urine en rapport avec le diamètre des tubes. Ce volume doit être contenu dans le tube à diaphragme et le premier tube.

La mousse se forme, envahissant la région supérieure du tube. Le niveau du liquide s'abaisse. Il faut maintenir une certaine distance entre la surface de séparation mousse-liquide et le diaphragme poreux : 6 à 8 centimètres. « Cette précaution doit être rigoureusement observée, sous peine d'échec à peu près immanquable, dû en particulier aux remous se formant dans la mousse .L'essorage et l'enrichissement de la mousse seraient alors nuls. »

Le pouvoir moussant de l'urine décroît depuis le début du moussage et tend à s'annuler lorsqu'elle a perdu les constituants qui la font mousser.

« La mousse s'essore, les bulles sont d'autant plus grosses qu'elles sont situées plus haut dans la mousse, et cette variation du diamètre des bulles en fonction de la hauteur au-dessus du liquide est la preuve que l'essorage a lieu. » Le niveau liquide remonte, puis se stabilise à une courte distance du niveau d'origine.

On peut arrêter le moussage, l'urine est débarrassée de tous les constituants entraînables.

On sépare le tube B du tube C. On recueille dans un récipient la mousse qui s'écoule et se liquéfie lentement, et, dans un autre, l'urine.

Procéder ainsi une première fois pour toute l'urine.

Recommencer une seconde fois, par prudence, puis mélanger les deux mousses.

4° *pH.* — Le liquide résultant des moussages successifs est amené à pH 5.

5° *Précipitation par l'alcool.* — On ajoute 4 volumes d'alcool absolu.

6° *Mise à la glacière* à 4° C pendant douze heures : il se forme un précipité blanc cotonneux.

7° *Centrifugation.* — On recueille le liquide surnageant et on fait s'évaporer le peu de liquide qui reste à l'étuve à 37° C.

8° *Reprise du précipité* par une faible quantité d'eau distillée.

Résultats.

Pour chaque expérience, nous procédons ainsi :

1° Essai des urines avant concentration. Ce qui nous permet de savoir combien 1 cm³ contient d'unités-rana.

2° Concentration.

3° Essai de 3 cm³ d'urine qui a servi à la concentration. Nous avons pris ce chiffre comme étant le maximum que l'on puisse injecter à nos animaux, qui sont la plupart du temps d'un poids plus proche de 10 grammes que de 30 grammes.

Après deux moussages, jamais ce test ne fut positif.

4° Recherche de la quantité d'unités-rana contenue dans le précipité final. Elle doit correspondre à un chiffre facilement obtenu en multipliant le chiffre trouvé au 1° par la quantité d'urine qui a servi au moussage.

Voici quelques résultats :

Urine de M^me^ X..., enceinte de 1 mois 1/2.

1° Entre 2 et 4 u-r au centimètre cube.

2° On concentre 340 cm³, qui contiennent donc entre 680 et 1.380 u-r :

— Un premier moussage donne un précipité repris par 2 cm³. Il contient 1.000 u-r : essai au 1/500 sur 5 grenouilles, 3 sont positives; au 1/600, 5 grenouilles sont négatives.

— Un second moussage donne un précipité qui est positif au 2/5 et négatif au 1/10; il contient entre 5 et 20 u-r.

Urine de M^me^ Be...

1° Elle contient entre 10 et 15 u-r par centimètre cube.

2° Concentration de 245 cm³, qui contiennent entre 2.450 et 3.675 u-r.

Le précipité est repris par 4 cm³ d'eau.

Les tests sont positifs au 1/700 : le précipité contient au moins 2.800 cm³ u-r. Il est négatif au 1/800.

Mais il y a eu des échecs. Ainsi, le cas d'urines de deux femmes enceintes de trois mois.

1° 2 à 3 u-r par centimètre cube.

2° — Un essai sur 210 cm^3, qui contiennent donc entre 420 et 630 u-r; le précipité est repris par 3 cm^3 d'eau et est négatif au 1/20, contenant donc moins de 60 u-r.

— Essai sur 165 cm^3, qui contiennent entre 330 et 495 u-r; le précipité, repris par 4 cm^3, est positif au 1/40, mais négatif au 1/50. Il contient entre 160 et 200 u-r.

Nous venons d'avoir connaissance d'un article de R. F. Varney et F. G. Koch paru dans *Endocrinology*. Ces auteurs signalent les pertes survenues au cours de la dialyse, sans que cette dernière ait débarrassé l'urine de tous les corps toxiques. Ils précipitent l'urine par 4 volumes d'alcool à 95°, puis reprennent le précipité par l'alcool à 50° et reprécipitent par l'alcool absolu.

Ce serait peut-être là l'explication d'échecs dont nous rapportons un cas. Nous nous sommes aperçu que des urines non dialysées moussaient bien et dialysées ne moussaient à peu près plus. Aussi essayons-nous de modifier notre technique ainsi :

1° centrifugation;

2° moussage;

3° précipitation par l'alcool absolu à pH 5 et à 4° C.;

4° reprise par l'alcool à 50°;

5° reprécipitation par l'alcool absolu.

CONCLUSIONS

Nous rapportons les résultats obtenus au Laboratoire de la Clinique obstétricale de Bordeaux dans l'application du test de Galli Maïnini à *Rana esculenta*.

Nous avons pu contrôler 228 réponses pour lesquelles furent injectées 423 grenouilles mâles avec 92,55 % d'exactitude, taux global se décomposant ainsi : 99,10 % pour les tests positifs et 86,20 % pour les tets négatifs.

Nous avons montré l'intérêt du test gonadotrope dans les grossesses normales, les grossesses extra-utérines et les avortements.

L'étude détaillée de nos erreurs nous a amené à préciser l'interprétation des résultats et à accorder un intérêt tout particulier au test positif.

Pour le diagnostic de gravidité de la jument, nous attirons l'attention sur la fréquence des réponses faussement négatives avant le 50e jour et conseillons de pratiquer le test après cette date.

L'emploi de *Rana esculenta* comme animal-test nous a permis de contrôler la concentration de l'hormone gonadotrope par la technique du moussage.

Nous insistons sur les avantages de l'utilisation de *Rana esculenta* pour le diagnostic biologique de la grossesse :

— rapidité de la réaction;

— bas prix de revient, d'où :
possibilité d'injecter plusieurs animaux pour neutraliser les variations de sensibilité;
possibilité de recommencer un test sans grande perte de temps.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes, et, si je viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

Vu, bon a imprimer :

Le Président,

M. RIVIERE.

Vu : *Le Doyen,*

G. PORTMANN.

Vu et permis d'imprimer :

Bordeaux, le 25 janvier 1932.

Le Recteur de l'Académie,

E. DELAGE.

BIBLIOGRAPHIE

Anglas. — La grenouille, anatomie et dissection.

Bach, Szçuk (J.), Robert (L.) and Klinger (B.). — *The Lancet*, 256, 124, 1949, in Thorborg.

Baudelot (J.). — Du biodiagnostic de la grossesse; le test de Galli Maïnini appliqué à la grenouille mâle. Thèse Paris, juill. 1949.

Bedoya (J.-M.), Plaza (F.). — L'emploi du mâle de *Rana esculenta* pour le dosage des gonadotrophines. *Rev. Espagn. de Obst. Gyn.*, Valencia, août 1949, 45, 173-177.

Bedoya (J.-M.) et Puras (A.). — Trabajos del Instituto Nacional de Ciencas Medicas. Madrid, 12, 91, 1949.

Bertin et Boisselier. — Manipulations zoologiques.

Bevacqua (R.) et Formentano (V.). — Test de Galli Maïnini sur *Rana esculenta* L. et confrontation des résultats avec le test de Friedman. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1950, 26, 54.

Bhaduri (J.-L.), Bardhan (N.-R.). — Emploi des grenouilles et des crapauds mâles comme animaux d'épreuve pour le diagnostic précoce de la grossesse et de certains états associés. *Science*, U. S. A., 1949, 109, 2838.

Biernacka (J.) et Pigon (A.). — *Przegl. Lekarskiego*, 4, 482, 1948, in Thorborg.

Bodine (C. D.), Kline (R. F.), Rogers (R. A.), Smith and Tinker. — La grenouille mâle (*Rana pipiens*) comme animal d'épreuve pour la détermination du taux de gonadotrophine choriale urinaire au cours de la grossesse. *Amer. Journ. of Obst. and Gyn.*, 1950, vol. LIX, 648.

Bourgarel (R.). — Diagnostic biologique de la grossesse. *Encyclop. méd.-chir.*, 5014-A.

Bourgarel (R.) et Moutte. — Contribution à l'étude de la buforéaction pour le diagnostic précoce de la grossesse. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst.*, 1949, 276.

Bown. — Diagnostic biologique de la grossesse avec la grenouille *Rana esculenta*. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, 1949, 1, 347.

Bradbury (J. T.), Brown (E. S.), Brown (W. E.). — Adsorption des gonadotrophines urinaires sur le kaolin. *Proc. Soc. de biol.*, U. S. A., 1949, 71, 228.

Brandfass (C. F.) and Massa (E. J.). — *Denison Univers. Bull. Journ. of the scient. laborat.*, 1949, 41, 47.

Brehm (A.-E.). — Les reptiles et les batraciens.

Brody. — The use of the male leopard frog *Rana pipiens* as a pergnancy test animal. *Amer. Journ. Obst. Gyn.*, 1949, 57, 3, 581.

Bussard. — Recherches immunologiques sur la gonadostimuline choriale humaine. Thèse de doctorat en sciences naturelles, Paris, mai 1950.

Castelberg. — Le diagnostic biologique de la grossesse au moyen du crapaud mâle. Réaction de Galli Maïnini. *France médicale*, nov. 1949, n° 11.

Cerquiglini (S.). — Sur le diagnostic biologique de la grossesse de Galli Maïnini. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1948, 24, 225 (6).

Chapoux (R.). — Le crapaud mâle vulgaire et l'hormone gonadotrope gravidique. Thèse Bordeaux, 30 juill. 1948.

Courrier et Dognon. — Concentration des produits gonadotropes urinaires par la méthode des mousses. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1939, t. 209, p. 242.

Crézé. — Diagnostic biologique de la grossesse par le test des batraciens mâles communs en France. *Rev. franç. de gyn. et d'obst.*, 1949, 44, 53.

— Sensibilité du testicule des batraciens à l'hormone lutéinisante hypophysaire (L. H.). *C. R. de la Soc. de biol.*, 1949, n° 143, p. 1331.

Utilisation des batraciens français pour le diagnostic biologique de la grossesse. *Semaine des hôpitaux*, n° 30, 1950, p. 2446.

Crézé et Fonty. — Diagnostic biologique de la grossesse par test sur crapauds et grenouilles mâles communs en France. *Ann. de biol. clin.*, 1948, 326, 331.

Cutler (J. N.). — An appraisal of the male North American frog — *Rana pipiens* — pregnancy test with suggested modifications of the original technique, avril 1949, 4, 554.

De Gennes. — Un nouveau procédé de diagnostic biologique de la grossesse, la réaction de Galli Maïnini. *Presse médicale*, 1947, n° 55, p. 728.

De Robertis (E.), Burgos (M. H.), Breyter (E.). — Action of the anterior pituitary on sertolcells and on release of toad spermatozoa. *Proc. Exp. Biol. and Med.*, janv. 1946, 61, 20.

Desbordes (J.). — Quelques techniques nouvelles du diagnostic biologique de la grossesse. *Q. S.*, n° 10, vol. II, p. 633.

Devaux et Coll. — Phénomène de mouillabilité et les applications de ces phénomènes. Hermann, Paris.

Dognon et Dumontet. — *C. R. de la Soc. de biol.*, 1941, 135, p. 884.

Fal (J. C.), Trilla (J. L.). — The Galli Maïnini test. *Rev. Assoc. Bioq. Argent.*, 1949, 16/63, 40, 42.

Fotin (S.), Smolenschi (L.) et Teodorn (G. C.). — Nouvelles recherches de diagnostic biologique de la grossesse par la réaction de Galli Maïnini. *C. R. de la Soc. franç. de gyn.*, 1948, 48, 140.

Frank et Salmon. — *Proc. Soc. Exp. Biol.*, N.-Y., 32, 1237, in Thorborg.

Frechette (M.), Lalande (E.). — *Rev. Cnand. Biol.*, 7, 293, 1948, in *Excerpta Medica*, section III, 3, 119, 1949.

Gallien (L.). — Réactivité de *Xenopus Loevis Daudin*, mâle aux gonadotrophines hypophysaires et chorioniques. Application au diagnostic biologique de la grossesse. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1948, 226, 1141.

— Réactivité de quelques espèces d'anoures mâles à l'injection de faibles doses d'urine de femme enceinte après concentration par moussage des urines. *C. R. de la Soc. de biol.*, 26 juin 1948.

Galli-Maïnini (C.). — Reaccion diagnostica de embarazo en la que se usa el sapo macho como animal reactivo. *Semana Medica*, mars 1947, 64, 337.

— Pregnancy test using the male toad. *The Journ. of Clin. Endocrinol.*, sept. 1947, vol. VII, 653-658.

— Test de la grossesse sur les batraciens mâles. *Endocrinology*, 1948, 43, 349.

— Influencia de la temperatura, luz, estacion y doses en la respuesta del sapo macho a la gonadotrofine corionica. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1949, 25/5-6-7, 155-159.

— Pregnancy test with male batrachia. *Amer. Journ. Obst. Gyn.*, 1949, 57, 349-350.

Gardner-Hermann (L.) and Nancy (B.), Harris. — Use of the male frog — *Rana pipiens* — in a biological pregnancy test. *Amer. Journ. Obst. and Gyn.*, févr. 1950, vol. LIX, 350.

Giltz (M. L.), Miller (D. F.). — Ways of improving the male frog test for pregnancy. *Ohio Journ. Sc.*, U. S. A., 1950, sept. 1950, 5, 205.

Haines (M.). — Pregnancy test using an European male toad. *Nature*, sept. 1948, 162, 416.

Haines (M.) and Ferreira (H. P.). — Pregnancy test using a European male toad. *Nature*, 1949, 164, 4172.

Hinglais (H. et M.). — Emploi de la grenouille mâle indigène pour la recherche et éventuellement le dosage des gonadotrophines hypophysaires ou chorioniques. Application au biodiagnostic de la gestation chez la femme et chez la jument. *C. R. de l'Acad. des sc.*, 1948, 226, 1041-1043.

— Emploi des amphibiens mâles pour le dosage des gonadotrophines. Définition d'une rana et d'une bufo-unité. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 1949, 143, 324-325.

— Emploi des amphibiens mâles pour la recherche des gonadotrophines. Action de doses massives répétées de gonadotrophines sur la migration spermatique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 143, 809-810.

Action de l'adrénaline sur l'excrétion spermatique chez les grenouilles mâles. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1949, 143, 811-812.

Hinglais (H. et M.). — La rana et la bufo-réaction de grossesse. Actions gonadotrophiques chez les amphibiens mâles d'Europe. *Presse médicale*, 1950, 58, n° 7, p. 95.

Hogben (L.). — Note to the Royal Society of South Africa, mars 1930.

— History of the Hogben test. *Brit. Med. Journ.*, 2, 554, 1946.

Houssay (B. A.) et Lascano Gonzales (J. M.). — Relaciones entre la hipofisis y el testiculo en el sapo. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1929, 5, 77-78.

— Sensibilité comparée de la lapine et du crapaud mâle à la gonadotrophine chorionique. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1949, 143, 1254.

Internicola (P.). — Contribution à l'étude de la réaction biologique de la grossesse de Galli Maïnini. *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1948, 24, 1176 (8).

Jaubert (J.-L.), Seiglan (P.), Boutareaud (J.). — Le test de la spermatogénèse chez la grenouille mâle. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, t. III, n° 4, 1951.

— Utilisation de la grenouille mâle, *Rana esculenta*, pour le diagnostic de la grossesse. *Concours médical* (sous presse).

Klopper (A.) et Frank (H.). — *The Lancet*, 256, 9, 1949, in Thorborg.

Lima (O. R.), Pareira (O. G.). — *Nature*, Londres, 161, 676, 1948, in Thorborg.

Loraine (J. A.). — The estimation of chorionic gonadotrophin in the urine of pregnant women. *Journ. Endocrinol.*, vol. VI, janv. 1950, n° 3, 319-329.

Magendie, Servantie, Chapoux. — Le test biologique du crapaud mâle dans le diagnostic de la grossesse. *Soc. franç. de gyn.*, 19, n° 6, oct. 1949, p. 162-165.

Marachy (F.-Al.) et Gianetto (J.-C.). — Diagnostic biologique de la grossesse. *Presse médicale*, 1948, n° 65.

— A propos du diagnostic biologique de la grossesse. *Presse médicale*, 1950, n° 51.

Marlowe Dittebrandt. — Use of *Xenopus Loevis* in testing for pregnancy. *Amer. Journ. of Clin. Pathol.*, vol. XIX, mars 1949, 284-288.

Martella (E.). — L'épreuve biologique de la grossesse pratiquée sur le mâle de *Bufo vulgaris* et de *Rana esculenta*. *Arch. Ost. Gin. Ital.*, 1948, 53, 193.

Martin et Schemmel. — Contribution au problème du diagnostic biologique de la grossesse par un nouveau test. Soc. Gyn. et Obst. de Paris, séance du 4 juill. 1949, in *Semaine des hôpitaux*, n° 75, 1949.

Mello (M. I.). — Care and maintenance of toas and frogs in captivity for the performance of Galli Maïnini's pergnancy test. *Journ. Clin. Endocrinol.*, sept. 1949, 1372.

Nobili (L.). — L'épreuve biologique de Galli Maïnini pour le diagnostic de la grossesse. *Bull. Sc. Med. Ital.*, 1948, 120, 453.

Palliez (R.) et Cotteel (P.). — La bufo-réaction; test quantitatif. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, 1949, I, 511.

Palliez (R.), Gernez (L.), Cotteel (P.). — Observation d'un chorio-épithéliome malin diagnostiqué par bufo-réaction. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, 1950, t. II, p. 80.

Palliez (R.), Gernez (L.), Cotteel (P.), Delecour. — La bufo-réaction dans le diagnostic précoce de grossesses môlaires. *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, 1950, t. II, p. 80.

Paredes (P. L.). — Réaction de Galli Maïnini qualitative et quantitative. *Bol. Soc. Chilena Obst. y Gin.*, vol. XIII, p. 214, in *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, t. I, p. 180.

Parmentier. — Contribution à l'étude du diagnostic biologique de la grossesse à l'aide de *Rana esculenta* mâle. *Progrès médical*, nos 13-14, juill. 1950.

Pickett (R. F.), Wiltberger (P. B.), Miller (D. F.). — The use of the male frog test as an aid in the diagnosis of retained placental tissue. *Ohio Journ. Sc.*, 1948, 48, 246.

Ponse (K.). — L'organe de Bidder et le déterminisme des caractères sexuels secondaires du crapaud *Bufo vulgaris*. *Rev. suisse de zool.*, 1924, 31,177.

Rives. — Un nouveau test de grossesse, la réaction des mélanophores sur la grenouille hypophysectomisée. Thèse méd. Bordeaux, 1947.

Robbins (S. L.). — *Journ. Clin. endocrinol.*, 11 févr. 1951, 213-220, in Thorborg.

Robbins (S. L.), Parker (Jr). — The use of the male North American frog in the pregnancy test. *Endocrinology*, U. S. A., 1948, 42, 237.

— La fidélité du diagnostic de la grossesse avec *Rana pipiens* mâle. *New Engl. Journ. Med.*, 1949, 241, 12.

— *Endocrinology*, n° 4, t. XLIV, 1949, in Thorborg.

Robbins (S. L.), Parker (F. Jr), Bianco (P. D.). — The reaction of the male South African clawed frog (*Xenopus Loevis*) to gonadotropins. *Endocrinology*, 1947, 40, 227.

Rouchy (R.) et Crézé (J.). — Utilisation des espèces communes des batraciens français pour le diagnostic biologique de la grossesse. *Gaz. méd. de France*, oct. 1949, p. 734.

Rousselot (R.). — Application de la réaction de Galli Maïnini à *Bufo regularis* au Congo français. *Ann. endocrinol.*, Paris, 1950, II, 91-96; *C. R. de la Soc. de biol.*, 1950, 144, 26-27.

Rugle (R.). — Release of spermatozoa by anterior pituitary treatment of the male frog *Rana pipiens*. *Proc. Soc. Exper. Biol. et Med.*, 36, 418, 1937.

Samson (M.). — Variations saisonnières dans la sensibilité de *Rana pipiens* à la gonadotrophine choriale. *Science*, U. S. A., 1950, III, 231.

Scott (L. D.). — Concentration and detoxification of human urine for biological pregnancy diagnosis. *Brit. Journ. Exp. Path.*, 21, 820-824, 1940.

Schockaert (J.-A.), Périn (J.) et Pardon (M.). — Le diagnostic biologique ultra-rapide de la grossesse par le crapaud mâle. *C. R. de la Soc. belge de biol.*, 26 juin 1948; *Ann. endocrinol*, 1948, t. IX, n° 5; *Bull. de l'Assoc. de gyn. et d'obst. de lang. franç.*, t. I, p. 180.

Seiglan (P.). — L'hormone mélanotrope pendant la grossesse. Sa recherche, son dosage, sa nature. Thèse Bordeaux, 1951.

Servantie et Chapoux. — Le crapaud mâle et la grenouille mâle comme nouveaux tests de diagnostic de la grossesse. *C. R. de la Soc. de biol.*, 1948, 142, 1542.

Servantie, Cambar, Moretti, Bonnal. — Technique d'hypophysectomie chez la grenouille. *Biologie médicale*, vol. XXXVI, janv.-févr. 1947.

Shapiro (H. A.) et Zwarenstein (H.). — Note to the Royal Society of South Africa, oct. 1933.

Sharnoff (J. G.) et Zaino (E. C.). — An evaluation of the male frog pregnancy test. *Amer. Journ. of Obst. and Gyn.*, 1950, vol. 59, p. 652.

Simonnet. — Dosage des gonadotrophines en gynécologie. Congr. internat. jubil. de la Soc. franç. de gyn.

Sirjean (G.). — Réaction de Galli Maïnini et dosage du prolan B chez la femme enceinte. *Presse médicale*, n° 39, 1950.

Soucy (L. B.). — Seasonal variation in the reponse of leonard frogs to injections of pregnancy urine. *Amer. Journ. of med. technol.*, Houston, 16 sept. 1950.

Tabarelli-Neto (J. F.). — Etude comparative de la réaction du crapaud mâle au sérum de jument gravide et du test de Cole-Hart. *Amer. Journ. of Veterin. Res.*, janv. 1949, vol. X, n° 34, p. 74.

Thorborg (J. V.). — The use of *Xenopus Laevis*, *Bufo* and *Rana-Esculenta* as tests animals for gonadotrophic hormones. *Acta Endocrinologia*, vol. IV, fasc. 1, 1950, p. 16-42, 163-178.

Varney (R. F.) and Koch (F. C.). — A method for the assay of the gonadotropin content of normal human urine. *Endocrinology*, 1942, 30, 399.

Villateau (J.-M.). — Contribution à l'étude de la méthode des mousses. Thèse Bordeaux, 22 oct. 1946.

Weismann and Coates. — The South African frog (*Xenopus Laevis*) in pregnancy diagnosis. *N. Y. Biol. Res. Foundat.*, 134, 1944.

WILTBERGER (D. F.) and MILLER. — La grenouille mâle, *Rana pipiens*, nouvel animal test de diagnostic précoce de la grossesse. *Science*, 107-198, 1948.

WODON (J. L.) et HANNES (J.). — Les tests biologiques de la grossesse. Leur fidélité. Test de Friedman après vingt-quatre heures. *Rev. franç. de gyn. et d'obst.*, 1949, n° 9, p. 328.

ZWARENSTEIN and DUNCAN. — Ten years of the *Xenopus pregnancy* test. *Clin. Proc.*, 3, 186-193, 1944.

Pour la bibliographie du test de l'hormone mélanotrope, voir la thèse de Seiglan.

Dépôt légal en 1952 (1er trimestre).

26051. — IMPRIMERIES DELMAS, Bordeaux (31.0192).